биохимии и иммунологии ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт РАСХНг. Саратов

Василенко Ольга Александровна, научный сотрудник лаборатории иммунологии отдела биохимии и иммунологии ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт РАСХНг. Г. Саратов

Фомин Александр Сергеевич, аспирант кафедры терапии, клинической диагностики, фармакологии и радиобиологии, ФГОУ ВПО Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова. Научный руководитель Винников Николай Тимофеевич

Адрес электронной почты для связи с редакцией Kozlov12@inbox.ru

УДК 616:616.98:578

Глотова Т.И., Тугунова Т.Б., Русских В.В., Глотов А.Г.

(Государственное научное учреждение институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Сибирского отделения Россельхозакадемии (г. Новосибирск); клиника ДокторВет (г. Новосибирск)

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ В ОПЫТАХ IN VITRO И IN VIVO В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА РИНОТРАХЕИТА КОШЕК

Ключевые слова: ринотрахеит кошек, инфекционное заболевание, противовирусные препараты

Введение

Ринотрахеит кошек - инфекционное заболевание кошек вирусной этиологии, широко распространенное во всем мире. Возбудитель болезни, FeHV-1, относится к подсемейству Alphaherpesvirinae, роду Varicellovirus. Вызывает у взрослых животных преимущественно поражения органов респираторного тракта и глаз, у молодых – острую респираторную инфекцию, часто с летальным исходом [5…7, 10].

Вирус может формировать состояние латенции, при котором переболевшие животные, остаются пожизненными вирусоносителями. В некоторых питомниках по выращиванию кошек до 97% животных могут иметь специфические антитела к FeHV-1, что свидетельствует об энзоотическом характере инфекции. При таком типе течения болезнь сопровождается периодическими рецидивами с выделением вируса во внешнюю среду. Однако у неимунных животных ринотрахеит протекает значительно тяжелее с вовлечением в инфекционный процесс до 100% животных [9, 11].

При энзоотическом течении, а также при систематической профилактической вакцинации животных, болезнь проявляется в виде слабого респираторного синдрома, а также в виде субклинической или инаппарантной инфекции.

Впервые болезнь описана в США как «синдром поражения верхних дыхательных путей» у котят [8]. В России выделение вируса с установлением его этиологической роли было осуществлено в 1995 г. [4], затем в 2000 г. в Сибири во время вспышки заболевания в питомнике домашних кошек [1].

Разведение высокопородных, племенных животных сопровождается их постоянным экспортом и импортом, что значительно усугубляет эпизоотическую ситуацию по инфекционным болезням.

Распространению возбудителя инфекции среди популяции домашних кошек также способствуют концентрация животных в питомниках по их разведению, перегруппировки, выставки, вязки и другие мероприятия, сопровождающиеся стрессами, при которых происходит реактивация вируса из латентного состояния, сопровождающаяся его репликацией и экскреци-

ей во внешнюю среду с носовыми, глазными и вагинальными выделениями, а также слюной животных.

При данной патологии большую роль играет специфическая профилактика, поскольку иммунизированные животные легче переносят инфекцию, однако она не предотвращает латентного состояния вируса.

Количество экспериментальных работ, посвященных изучению противовирусной активности различных препаратов в отношении вируса ринотрахеита кошек, ограничено.

Известен способ лечения ринотрахеита кошек, включающий использование противовирусного препарата фоспренил [2]. Однако в некоторых случаях использование данного препарата не приводит к выздоровлению животных, а сопровождается переходом острой инфекции в латентную форму, особенно во время стрессовых ситуаций, а также - периодическим обострением заболевания и выделениями вируса с различными секретами животного. Это часто связано с несоблюдением рекомендуемых доз и схем применения препарата.

Описан также способ лечения этого заболевания у кошек с применением противовирусного препарата ацикловир [12], который предполагает пероральное введение ацикловира в дозе 100 мг/кг массы животного. Длительность применения препарата ограничивается сроками клинического выздоровления животного. Однако эти исследования были проведены на незначительном количестве животных, что не дает достоверных данных о дозе и сроках его применения, способствующих выздоровлению животных при ринотрахеите. Доза в предлагаемом способе достаточно высокая, вызывает явления токсикоза у животных, сопровождающиеся лейкопенией, анемией, нарушениями функционального состояния печени.

Целью исследований являлось расширение спектра эффективных противовирусных препаратов, которые можно использовать в практической ветеринарии. Для этого изучали противовирусную активность препаратов ридостин, гамапрен, йодантипирин и ацикловир в отношении вируса ринотрахеита кошек в условиях in vitro и in vivo.

Материалы и методы исследований

Вирусы и культуры клеток. В опытах использовали вирус ринотрахеита кошек (штамм Гранд). Титрование вируса проводили микрометодом в 96-луночных культуральных планшетах (Costar) с культурой клеток FS (селезенка кошки) с использованием не менее 4 параллельных рядов. Инфекционный титр вируса выражали в ТЦД50/мл (50%-ная тканевая цитопатическая доза).

Препараты. Ридостин (ЗАО «Вектор-Медика», серии 61006), гамапрен (серия № 006, ООО «ГамаВетФарм»), йодантипирин (серия 030307, ООО «Наука, Техника, Медицина»), ацикловир (серия 391108, ООО «Озон»).

Определение токсичности и противовирусной активности препаратов in vitro и in vivo проводили в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (Р.У. Хабриев, 2005).

Титрование вируса. Определение инфекционной активности вирусов проводили микрометодом в 96-луночных культуральных планшетах (Costar) с культурами клеток с использованием не менее 4 параллельных рядов и выражали в ТЦД50/мл (50%-я тканевая цитопатическая доза).

Все опыты проводили в трехкратной повторности. Статистическую обработку проводили общепринятыми методами, оценивая доверительный интервал для 95%-й вероятности.

Противовирусную активность препаратов in vivo оценивали на животных при групповом содержании в питомниках во время острых вспышек болезни. Критерием противовирусной эффективности препаратов служили: сокращение сроков проявления клинических признаков заболевания и длительности выделения вируса от больных животных. В каждой опытной и контрольной группе было по 6 животных в возрасте 5-6 месяцев, отобранных по принципу аналогов. Всего использовали 42 котенка с признаками острой респираторной инфекции.

Результаты исследований

При выборе нетоксических концентраций всех изучаемых препаратов в культуре клеток FS было отмечено, что они оказались одинаковыми у препаратов ацикловир, йодантипирин и ридостин и были равны 50 мкг/мл. У препарата гамапрен нетоксическая концентрация составила 500 мкг/мл. Дальнейшие исследования проводили с использованием именно этих доз.

В результате опытов нами подтверждена высокая противовирусная активность

Ацикловира в отношении вируса ринотрахеита кошек, достоверно снижающего его концентрации по сравнению с контролем более чем на 4 lgТЦД$_{50/мл}$.

Таблица – Накопление вируса ринотрахеита кошек в культуральной жидкости в присутствии препаратов

Название препарата	Использованная доза препарата, мкг/мл	Концентрация вируса ринотрахеита кошек (M±m), lg ТЦД$_{50/мл}$	
		Опыт	Контроль
Гамапрен	500	3,07±0,07	5,58±0,07
Ацикловир	50	1,33±0,18	
Йодантипирин	50	3,58±0,07	
Ридостин	50	4,00±0,12	

Примечание: различия между контролем и соответствующим показателем статистически достоверны с вероятностью 95%.

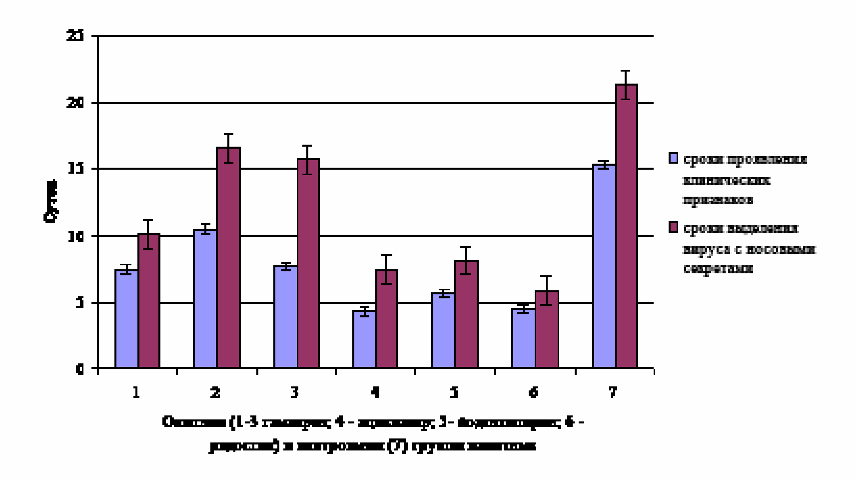


Рисунок – Противовирусная активность препаратов в отношении вируса ринотрахеита в опытах in vivo

Установлена также выраженная противовирусная активность препаратов гамапрен и йодантипирин. Они снижали его инфекционную активность более чем на 2 lgТЦД50/мл. Наименьшее противовирусное действие в опытах in vitro проявил препарат ридостин (таблица).

Во всех пробах носовых выделений и истечений из глаз, отобранных от животных в разгар острой вспышки заболевания, методом ПЦР был выявлен вирус ринотрахеита кошек.

По литературным данным сроки проявления клинических признаков у инфицированных вирусом ринотрахеита в естественных условиях животных составляют 10 – 14 суток, а длительность выявления ДНК вируса в носовых секретах методом полимеразной цепной реакции – более трех недель.

По нашим данным длительность проявления клинических признаков в контрольной группе животных, лечение которых не проводили, в среднем по группе составляла 15,4 ±0,36 суток, а длительность выделения вируса с носовыми секретами по результатам ПЦР – 21,4 ±0,83 суток.

Выводы

Проведенные исследования показали положительную корреляцию противовирусной активности препаратов ацикловир и йодантипирин в опытах in vitro и in vivo в отношении вируса ринотрахеита кошек.

Ридостин при наименьшей противовирусной активности в опытах in vitro был

эффективным in vivo. Его применение привело к сокращению сроков проявления клинических признаков болезни в среднем по группе до 4,5±0,20 суток, выделения вируса – до 5,83±0,15 суток.

Менее выраженную противовирусную активность в отношении вируса в опытах in vivo проявил препарат гамапрен при всех использованных методах введения. Подкожное введение препарата сопровождалось ярко выраженной болевой реакцией со стороны животных и наименьшей противовирусной эффективностью.

Полученные результаты могут послужить основой для выбора эффективных противовирусных препаратов для этиотропной терапии ринотрахеита кошек.

Резюме: В статье приведены результаты изучения противовирусной активности ацикловира, ридостина, йодантипирина и гамапрена in vitro в культуре клеток и in vivo на естественно инфицированных вирусом ринотрахеита кошек животных..

SUMMARY

The results of the study of antiviral activity of acyclovir, ridostin, yodantipirin gamapren and in vitro in cell culture and in vivo in naturally infected cats rhinotracheitis animals.

Keywords: cats rhinotracheitis, infectious diseases, viricides

Литература

1. Глотова Т.И., Глотов А.Г. Инфекционный ринотрахеит кошек в условиях частного питомника // М-лы научно-практ. межд. конф. «Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных», Троицк, 2000.

2. Ожерелков С.В. Новый подход к лечению вирусных инфекций собак и кошек с помощью комплексного применения в качестве средств этиотропной терапии препаратов фоспренил и максидин / Ожерелков С.В., Третьякова Е.А., Деева А.В. и др. // Матер. научн.-практ. конф. Ветеринария. Орел, 2002; С.27—30.

3. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. Издание второе, переработанное и дополненное. – «Медицина».- Москва, 2005; с. 832.

4. Элизбарашвили Э.И., Рахманина М.М., Уласов В.И. и др. Ринотрахеит кошек // Ветеринария, 1995; 8: 50—52.

5. Evermann J.F., Laurenson M. et al. Infectious disease surveillance in captive and free-living cheetahs — an integral part of the species survival plan // Zoo Biol.,-1993; 12: 125—133.

6. Daniels M.J., Golder M.C. et al. Feline viruses in wild cats from Scotland // J. Wildl. Dis., 1999; 35: 121—124.

7. Davison A.J. Herpesviridae, in: Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L. A. (Eds.). Virus Taxonomy: Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / A. J. Davison, R. Seberle et al.// Elsevier, San Diego, 2005.

8. Crandell R.A., Maurer F.D. Isolation of feline virus associated with ihtrahuklear inclusion bodies // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1958; 97: 487 — 490.

9. Mochizuki M., Konishi S. Serodiagnostic aspects of feline herpesvirus infection // J. Vet Sci., 1977; 39: 191—194.

10. Munson L., Wack R. et al. Chronic eosinophilic dermatitis associated with persistent feline herpesvirus infection in cheetahs (Acinonyx jubatus) // Vet. Pathol., 2004; 41: 170—176.

11. Nasisse M.P., Glover X.L. et al. Detection of feline herpesvirus 1 DNA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration // Am. J. Vet. Res., 1998; 59: 856—858.

12. Owens J.G., Nasisse M.P. et al. Pharmacokinetics of acyclovir in the cat // J.Vet Pharmacol. Ther., 1996; 19(6): 488—490.

Контактная информации об авторах для переписки

Глотова Татьяна Ивановна – 630501, поселок Краснообск Новосибирского района, Новосибирской области, а/я 423; 8(383)308-77-45/348-10-65, t-glotova@mail.ru